

HPLC 法测定药用辅料乳酸中乳酸

孔璇, 吴燕, 李华龙

天津市药品检验研究院, 天津 300070

摘要: 目的 建立药用辅料乳酸中乳酸的 HPLC 测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 使用 Capcell Pak C₁₈ MG 色谱柱 (250 mm× 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.1%磷酸水溶液 - 乙腈 (97.5:2.5); 检测波长为 215 nm, 体积流量为 1 mL/min; 柱温为 35 ℃; 进样量为 20 μL。结果 乳酸在 0.1~5.0 mg/mL 与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.8%, RSD 值为 0.8% ($n=9$)。结论 此方法操作便捷、经济, 方法准确度、精密度、耐用性好, 可作为药用辅料乳酸中乳酸测定的分析方法。

关键词: 药用辅料乳酸; 乳酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2020)08-1524-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.08.004

Determination of lactic acid in pharmaceutical excipient lactic acid by HPLC

KONG Xuan, WU Yan, LI Hua-long

Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for assay of lactic acid in pharmaceutical excipient lactic acid. **Methods** HPLC method was adopted. The determination was carried out on Capcell Pak C₁₈ MG C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was consisted of 0.1% phosphoric acid aqueous solution - acetonitrile (97.5:2.5). The detection wavelength was set at 215 nm. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 35 ℃, and volume of injection was 20 μL. **Results** The linear relation was good ($r=0.999\ 9$) between lactic acid and peak area in the range of 0.1 — 5.0 mg/mL. The average recovery rate was 99.8% with RSD values of 0.8% ($n=9$). **Conclusion** The method has simple operation, good accuracy, precision and durability, which can be performed in assay of lactic acid in pharmaceutical excipient lactic acid.

Key words: pharmaceutical excipient lactic acid; lactic acid; HPLC

乳酸在食品、饮料、医药等领域有广泛的应用, 在药剂中可用作防腐剂、消毒剂、pH 值调节剂、助溶剂和前体药物制剂载体剂, 在化学分析中用作络合剂, 在食品工业中只用作酸味剂、防腐剂、pH 值调节剂、食用食料等^[1]。乳酸按其旋光性分为左旋、右旋、消旋型 3 种, 人体内只有 L-乳酸脱氢酶, 只能分解自身产生或摄入的 L-乳酸, 如过量摄入 D-乳酸、DL-乳酸会产生酸中毒等代谢紊乱症状, 因此作为药品原辅料只用 L-乳酸^[2]。乳酸的生产工艺有发酵、合成和酶法 3 种^[3], 由糖类发酵而得到的乳酸是左旋的, 而工业上合成得到的乳酸是消旋体, 原料使用乙醛和剧毒氢氰酸, 产品缺乏安全性, 酶法可得到单一旋光性乳酸, 但工艺复杂, 不适于

工业生产。乳酸以原料药收载于《中国药典》2015 年版二部^[4], 采用容量法测定, 限值为 85.0%~92.0%。文献报道的乳酸测定方法主要有气相色谱法^[5-7]、离子色谱法^[8-9]、高效液相色谱法^[10-12]等。气相色谱法测定乳酸有其局限性, 乳酸热稳定性差, 在高温气化室中易分解, 故需将乳酸衍生化为酯类后再进行测定, 操作较为复杂, 也可能会有基体干扰存在。离子色谱法成本高, 普适性亦较高效液相色谱法差, 而高效液相色谱法测定乳酸的文献报道均为样品中杂质或有关物质测定, 对药用辅料乳酸进行含量测定尚未有报道。本实验建立了高效液相色谱法对药用辅料乳酸中乳酸进行测定, 可作为具有高效液相色谱仪条件的实验室对乳酸测定

收稿日期: 2020-05-10

基金项目: 国家药典委员会药品标准制修订研究课题 (2019Y046)

作者简介: 孔璇 (1988—), 女, 硕士, 从事药用辅料检验检测工作。Tel: (022)23513760 E-mail: kong-lx@163.com

的分析方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AD 液相色谱仪, 配紫外检测器; 梅特勒-托利多 XS205 电子分析天平; 试验用水为超纯水, MiliporQ 制备 ($18.2\text{ M}\Omega/\text{cm}^3$, $25\text{ }^\circ\text{C}$); 乳酸对照品由 Dr. Ehrenstorfer GmbH 提供, 质量分数为 89.9%; 辅料乳酸样品共征集到 3 个厂家 7 批: 洛阳龙门药业有限公司 3 批, 批号分别为 18100185、18100285、18100385; 无锡福祈制药有限公司 3 批, 批号分别为 CD171101C、CD171102C、CD171103C; 默克化工 1 批, 批号为 K50491666833。

2 方法

2.1 色谱条件

资生堂 Capcell Pak C_{18} MG 色谱柱 ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈 (97.5:2.5); 检测波长为 215 nm, 体积流量为 1 mL/min ; 柱温为 $35\text{ }^\circ\text{C}$; 进样量为 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称定乳酸对照品 0.05 g , 置 5 mL 量瓶中, 加水溶解并加至刻度, 摇匀, 即得质量浓度约为 10 mg/mL 的溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称定辅料乳酸样品 0.1 g , 置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。再精密吸取 1.0 mL , 置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 线性关系考察

精密吸取乳酸对照品溶液 0.05 、 0.10 、 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.50 mL , 分别置 5 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 得线性系列溶液, 质量浓度约为 0.1 、 0.2 、 0.5 、 1.0 、 2.0 、 5.0 mg/mL 。以质量浓度为横坐标, 相应峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $A=488\,606\,C+2\,983.21$ ($r=0.999\,9$), 结果表明乳酸在 $0.1\sim 5.0\text{ mg/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 系统适用性考察

供试品中主峰与相邻杂质的分离度为 5.8, 空白溶剂无干扰, 乳酸的保留时间为 4.48 min , 理论塔板数为 6 550, 见图 1。乳酸的最低检出浓度为 0.02 mg/mL , 信噪比 3.4, 按供试品取样量为 0.1 g 计算, 检出限为 2%。

2.5 精密度试验

取 0.5 mg/mL 乳酸对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定乳酸峰面积, 结果其 RSD 值为 0.05%。

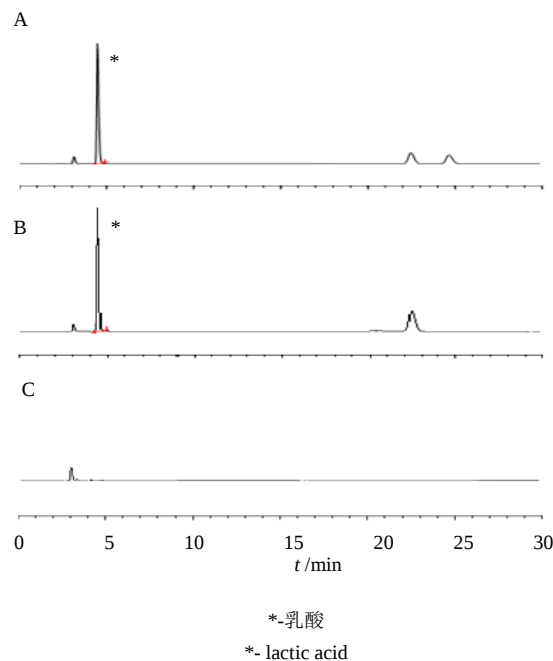


图 1 乳酸对照品 (A)、乳酸样品 (B) 和空白溶剂 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of lactic acid reference substance (A), sample (B), and blank solvent (C)

2.6 重复性试验

取批号 K50491666833 辅料乳酸样品, 重复进样分析 6 次, 测定峰面积值, 结果乳酸平均质量分数为 89.4%, RSD 值为 1.1%。

2.7 稳定性试验

取批号 K50491666833 辅料乳酸样品, 于供试品溶液制备后的 0、1、2、4、8、12、18、24 h 进样测定乳酸峰面积值, 结果供试品溶液于配制后的 24 h 内乳酸峰面积稳定, RSD 值为 0.1%。

2.8 日间精密度试验

取批号 K50491666833 辅料乳酸样品, 制备供试品溶液, 于 2019-11-12、2019-11-14、2019-11-18 分别测定乳酸峰面积值, 结果乳酸平均质量分数为 89.7%, RSD 值为 0.1%。

2.9 回收率试验

取批号 K50491666833 辅料乳酸样品 9 份, 精密称取 0.025 g , 置 5 mL 量瓶中, 加入 10 mg/mL 乳酸对照品储备液 3.0 、 2.5 、 2.0 mL , 各 3 份, 加水至刻度, 摇匀。再精密吸取 1.0 mL , 置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 进样测定, 计算回收率。结果平均回收率为 99.8%, RSD 值为 0.8%。

2.10 系统耐用性试验

选取另一品牌 C_{18} 色谱柱的方式考察系统的耐

用性,采用华谱 Unitary C₁₈ 色谱柱,对辅料乳酸样品(批号 K50491666833)进行测定,结果与资生堂 Capcell Pak C₁₈ MG 色谱柱的测定结果相同,方法耐用性好。

2.11 样品测定

按上述方法和色谱条件进行 3 个厂家共 7 批次辅料乳酸中乳酸的测定,结果见表 1。与《中国药典》2015 年版乳酸含量测定项下的容量法测得的结果无显著差异。

表 1 辅料乳酸中乳酸测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of lactic acid in pharmaceutical excipient lactic acid (n=2)

批号	乳酸/%	
	HPLC 法	容量法
18100185	89.9	86.2
18100285	90.6	86.8
18100385	88.8	86.4
CD171101C	89.1	88.3
CD171102C	89.7	88.4
CD171103C	88.0	88.7
K50491666833	89.7	90.5

3 讨论

《中国药典》2015 年版二部中乳酸含量测定的方法为容量法(中和滴定),操作较为复杂,需要定期配制、标定滴定液,并且存在一定的干扰,供试品消耗量较大(1 g)。本文建立的高效液相色谱法,采用最常用的 C₁₈ 色谱柱,流动相为 0.1%磷酸水溶液-乙腈(97.5:2.5),避免了使用易堵塞系统的磷酸缓冲盐体系,维护简单,试验步骤操作便捷,供试品、对照品消耗量少,方法准确度、精密度、耐用性好,并且测定结果与容量法测得的结果无显著差异。故对于具备高效液相色谱仪条件的实

验室,该方法可作为乳酸测定的仪器分析方法。本文作为探索性研究成果,为新版药典的修订提供了新思路。

参考文献

- [1] 罗明生,高天惠. 药剂辅料大全 [M]. 第 2 版. 成都:四川出版集团四川科学技术出版社,2006: 1107.
- [2] 甄光明. 乳酸及聚乳酸的工业发展及市场前景 [J]. 工业生物技术,2015(1): 42-52.
- [3] Rowe R C, Sheskey P J, Quinn M E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients* [M]. 6th ed. London Washington: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009: 355-356.
- [4] 中国药典 [S]. 二部. 2015: 679.
- [5] 张莉,文燕,齐伟明,等. 毛细管气相色谱法测定眼科手术粘弹剂中乳酸含量 [J]. 化学分析计量, 2014, 23(3): 43-45.
- [6] 苏国岁,何爱民. 气相色谱-质谱法测定卷烟烟气总粒相物中的乳酸 [J]. 分析实验室, 2006, 25(1): 46-48.
- [7] 张霞,刘志华,杨光宇,等. 固相萃取富集/气相色谱法测定烟草中的 9 种有机酸 [J]. 分析测试学报, 2014, 33(5): 61-66.
- [8] 王勇,魏金旺. 应用离子色谱法检测牛栏山二锅头原酒中有机酸类物质 [J]. 中国酿造, 2018, 37(11): 176-179.
- [9] 张成成,宋永健,王成艳,等. 离子色谱法测定聚乳酸制品中的聚乳酸 [J]. 质量管理与质量监督, 2017(10): 79-80.
- [10] 吕兆林,林西,邓文红,等. HPLC 法测定苹果酒中苹果酸及乳酸含量 [J]. 精细与专用化学品, 2012, 20(1): 9-13.
- [11] 马瑞,欧阳嘉,李鑫,等. 高效液相色谱法同时测定生物质乳酸发酵液中有有机酸及糖类化合物 [J]. 色谱, 2012, 30(1): 62-66.
- [12] 尹情胜,王小董,任翠丽. HPLC 法测定聚(乳酸-乙醇酸)中的乳酸、乙醇酸含量 [J]. 安徽医药, 2015, 19(3): 450-452.